

## Oorsigartikel

## Katesjolestrogene

A. C. NEETHLING, J. J. F. TALJAARD

## SUMMARY

Hydroxylation of oestrogens in the 2 or 4 positions leads to the formation of catechol oestrogens. These compounds are physiologically active in animals, especially in the control of gonadotropin secretion. Physiological activity can be ascribed to either an oestrogenic action or interaction with the catecholaminergic systems. These compounds are also formed in human subjects. Surprisingly high levels are found in the urine. The peri-ovulatory peak in urinary catechol oestrogen excretion is compatible with a role for these compounds in the control of gonadotropin secretion.

word tans aanvaar dat die katesjolestrogene ten minste kwantitatief met die klassieke estrogene, naamlik estroon, estradiol en estriol, vergelyk kan word.

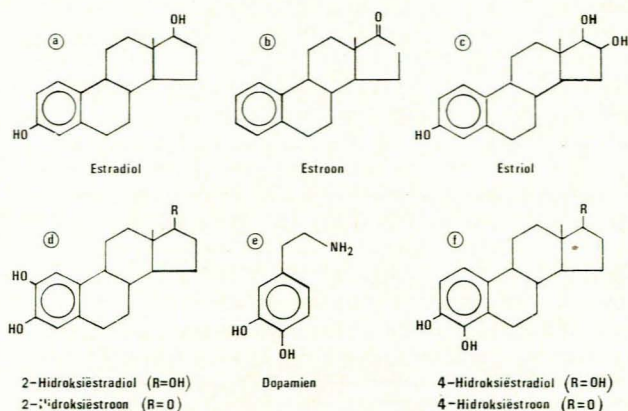
## BIOSINTESE VAN KATESJOLESTROGENE

Die omsetting van estrogene na katesjolestrogene word deur die mikrosomale ensiem, estrogeen-2-hidroksilase, gekataliseer. Soos in die geval van ander steroïedoksidases is die reaksie afhanklik van molekulêre suurstof, nikotinamied-adenien-dinukleotied (NADPH) en die sitochroom P<sub>450</sub>-elektrontransportsistiem.<sup>3</sup> *In vitro*-vorming van katesjolestrogene word dus onderdruk deur koolstof-

*S. Afr. med. J.*, **58**, 495 (1980).

Die metabolisme van estradiol (Afb. 1a) word gewoonlik in standaardhandboeke weergegee as 'n oksidasie van die 17-hidroksigroep van estradiol om estroon (Afb. 1b) te vorm. 'n Tweede belangrike reaksie is die hidroksilering van posisie 16 van estradiol om estriol (Afb. 1c) te vorm. Hierdie verbindings word dan hoofsaaklik as sulfaat- en glukuroniedkonjugate in die urien uitgeskei. Dit is egter al sedert 1960 bekend dat 2-hidroksiderivate (Afb. 1d) van estradiol en estroon ook in die urien voorkom.<sup>1</sup> Omdat die A-ring van hierdie verbindings struktureel soortgelyk is aan die katesjoling van die katesjolamiene; soos byvoorbeeld dopamien (Afb. 1e), staan die 2- of 4-hidroksiderivate (Afb. 1f) van estrogene ook as katesjolestrogene bekend.

Een van die belangrikste redes waarom relatief min aandag tot op hede aan hierdie groep verbindings geskenk is, is die feit dat katesjolestrogene baie labiel is en maklik oksidatiewe ontbinding ondergaan as die nodige voorsorgmaatreëls nie getref word nie. Tydens chromatografiese manipulasie van dié verbindings kan analitiese verliese so veel as 100% bedra. Nuwe chemiese sinteses van hierdie verbindings het daartoe bygedra dat katesjolestrogene meer vryelik bekombaar is en teen 'n hoë spesifieke aktiwiteit met tritium radioaktief gemerk kan word. Met die sensitiewe bepalingmetodes wat hieruit voortgevloei het, het dit nou duidelik geword dat 2-hidroksilasie van estrogene van groot belang kan wees.<sup>2</sup> Die sogenaamde totale urinêre estrogeenvlakke, soos deur roetine- kliniese chemieprosedures bepaal, verteenwoordig slegs ongeveer 20% van die metaboliete van endogene estradiol. Daar



Afb. 1. Strukturele verwantskap tussen estrogene, katesjolestrogene en katesjolamiene.

monoksied en SKF-525, beide bekende inhibeerders van die sitochroom P<sub>450</sub> gemengde funksie-oksidases. Anders as in die geval van vele ander hidroksilasiesisteme, lei behandeling met fenobarbitoon of metielcholantreen nie tot 'n inductiewe verhoging van estrogeen-2-hidroksilase-aktiwiteit nie.<sup>4</sup>

Die ensiemaktiwiteit word hoofsaaklik deur twee metodes bepaal. Een tegniek maak gebruik van die ensimitiese hidroksilering van radioaktiewe 2-[<sup>3</sup>H]-estradiol. Die enigste meganisme wat tot die vorming van getritieerde water kan lei, is 2-hidroksilasie van 2-[<sup>3</sup>H]-estradiol. Bepaling van die hoeveelheid gevormde getritieerde water dien dus as 'n indeks van die ensiemaktiwiteit.<sup>5</sup> 'n Tweede bepalingmetode maak gebruik van die metjering van die produkte van estrogeen-2-hidroksilase-aksie met behulp van die ensiem katesjol-O-metieltransferase en met radioaktiewe [<sup>3</sup>H]-S-adenosielmetionien as metieldonor. Die radioaktiewe metoksikatesjolestrogene word vervolgens met dunlaagchromatografie gesuiwer en die radioaktiwiteit word bepaal.<sup>6</sup> Beide tegnieke is met vrug gebruik om die vorming van katesjolestrogene in verskillende organe en

Departement Chemiese Patologie, Universiteit van Stellenbosch, Parowallei, KP

A. C. NEETHLING, M.Sc., Ph.D.

J. J. F. TALJAARD, M.B. Ch.B., M.D.

Ontvangsdatum: 9 Januarie 1980.



spesies te bestudeer, en hoewel die resultate kwantitatief moeilik vergelykbaar is, lewer beide metodes kwalitatief dieselfde resultate.

Vergelykende studies van die ensiemaktiwiteit in verskillende organe van die rot het getoon dat die lewer verreweg die hoogste konsentrasie van die ensiem bevat. 'n Interessante bevinding is dat die brein ook beduidende vlakke van die ensiem bevat, hoewel dit heelwat laer is as in die lewer.<sup>3-6</sup> Wat die bevindinge ten opsigte van die brein van groot potensiele belang maak, is die feit dat die hipotalamus hoër aktiwiteit as die res van die brein toon. Bogenoemde bevindinge in die rot is in 'n groot mate ook in menslike fetale materiaal verkry.<sup>7,8</sup>

## IN VIVO-EFFEKTE VAN KATESJOLESTROGENE

Die relatief hoër aktiwiteit van estrogeen-2-hidroksilase in die hipotalamus, 'n breinarea waar estrogene bekende neuroëndokriene funksies vervul, het gelei tot verdere ondersoeke na 'n moontlike fisiologiese rol vir katesjolestrogene, veral ten opsigte van neuroëndokriene regulasie van gonadotropienvrystelling. In rotmannetjies en -wyfies het katesjolestrogene 'n baie duidelike verhoging in luteotropien (LH)-vrystelling vanaf die hipofise tot gevolg gehad. Verhogings van tot 7 keer hoër as basale vlakke is binne 'n paar uur na toediening van 2-hidroksiëstroon, kwantitatief die belangrikste katesjolestrogene, gevind.<sup>9,10</sup> Katesjolestrogene bewerkstellig nie, soos estradiol self, 'n negatiewe terugvoerinhibisie van LH-sekresie nie, maar stimuleer wel LH-vrystelling. Daar kan dus gespekuleer word dat estradiol self verantwoordelik is vir die negatiewe beheercomponent van gonadotropienvrystelling, maar dat katesjolestrogene die positiewe component van gonadotropienvrystelling bemiddel.<sup>11</sup> Studies op miniatuurvarke van die Göttingen-ras het getoon dat katesjolestrogene inplanting in die amigdala tot verlaagde LH-vrystelling lei.<sup>12</sup> Net soos estradiol kan 2-hidroksiëstradiol seksuele gedrag in geovariëktomiseerde wyfierotte herstel.<sup>13</sup> 'n Anti-estrogene werking van katesjolestrogene is in 'n geïsoleerde rothipotalamus-preparaat aangetoon, waar daar gevind is dat katesjolestrogene 'n estradiol-afhanklike verhoging in sikliese adenosien-3,5-monofosfaat (sAMP)-vlakke antagoniseer.<sup>14</sup>

Daar bestaan dus heelwat bewyse dat katesjolestrogene moontlik 'n neuroëndokriene rol in die rot vervul. In die geval van die mens is bewyse vir 'n soortgelyke funksie egter afwesig. In 'n vroeëre studie, waar 2-hidroksiëstroon met behulp van 'n omslagtige dubbelisotoopderivaat-metode bepaal is, is gevind dat urinêre 2-hidroksiëstroonvlakke, net soos totale urinêre estrogeenvlakke, 'n piekuitskeiding tydens die peri-ovulatoriese fase van die menstruele siklus bereik.<sup>15</sup> Meer onlangs is radio-immunoëssais vir die verbindings ontwikkel en bogenoemde bevindinge is gestaaf in die urien<sup>2</sup> en die bloed.<sup>16</sup> Hoewel hierdie bevindinge natuurlik nie as bewys vir 'n neuroëndokriene rol van katesjolestrogene kan dien nie, is dit tog versoekenbaar met 'n mid-siklus-rol in die beheer van gonadotropienvrystelling. Bogenoemde bevindinge en die feit dat die nodige ensieme vir die vorming van katesjolestrogene

in fetale breine voorkom, is, sover bekend, al aanduidende dat hierdie groep verbindings as neuroëndokriene moduleerders by die mens kan optree.

## MOONTLIKE MEGANISMES VAN AKSIE

In die voorafgaande bespreking is voldoende bewys gelewer dat katesjolestrogene wel kandidate vir 'n fisiologiese rol in estrogene of anti-estrogene aksie is, veral op die vlak van die sentrale senuweestelsel. Twee moontlike meganismes van aksie vir dié tipe verbindings word voorgestel. Katesjolestrogene kan of as estrogene en/of anti-estrogene optree of op een of ander wyse deur middel van die katesjol-A-ring 'n effek op katesjolaminergiese prosesse uitoefen. Wat eersgenoemde moontlikheid betref, is dit bekend dat estrogene via 'n sitoplasmatiese bindingsproteïen, die sogenaamde estrogeenreseptor, na die selkern getranslokeer word. Na interaksie met die genetiese materiaal word estrogeen-spesifieke sellulêre response uitgelok. Katesjolestrogene het 'n relatief hoë affiniteit vir die estrogeenreseptor. Op 'n relatiewe skaal waarop estradiol, die aktiefste natuurlike estrogeen, 'n affiniteit van 100 toegeken word, toon die katesjolestrogene 4-hidroksiëstradiol en 2-hidroksiëstradiol affiniteite van 43 en 23 onderskeidelik. Hierdie affiniteite is in werklikheid hoër as die syfers van 10 en 11 wat aan estroon en estriol op dieselfde skaal toegeken word. Dit lyk dus asof katesjolestrogene volgens die klassieke meganisme van steroïedhormoonaksie kan optree. Ongelukkig is daar nie 'n goeie korrelasie tussen bogenoemde bindingstudies en estrogene potensie in biologiese toetse gevind nie.<sup>17</sup>

'n Ander meganisme waarvolgens die verbindings sou kon funksioneer is as moduleerders van die katesjolaminergiese neurotransmissieprosesse. Katesjolestrogene kan katesjolamin-neurotransmitterfunksie teoreties op die vlak van die selmembrana, of deur modulatie van die metabolisme en biosintese van katesjolaminiene, beïnvloed.

Katesjolestrogene word deur die ensiem katesjol-O-metieltransferase gemetileer. Verskillende ondersoeke in sisteme soos die lewer, hipotalamus en neuroblastoom-selkulture<sup>18</sup> het aangetoon dat katesjolestrogene die metilering van katesjolaminiene kompetitief inhibeer. Sodanige inhibisie sal dus tot verhoogde katesjolamienvlakke in die neuroëndokriene areas van die brein kan lei. Aangesien dit welbekend is dat die katesjolaminiene ten nouste gemoeid is met die beheer van gonadotropienvrystelling, is dit 'n baie aanloklike hipotese dat inhibisie van katesjol-O-metieltransferase deur katesjolestrogene 'n meganisme is waarvolgens katesjolestrogene *in vivo* optree.

Tirosienhidroksilase is 'n sleutelensiem in die biosintese van katesjolaminiene. Dit is bekend dat katesjolaminiene die ensiem inhibeer om sodoende outoregulering van katesjolamienkonsentrasies te bewerkstellig. Hierdie inhibisie geskied deurdat die katesjolaminiene met tetrahydrobiop-terien, die kofaktor van die reaksie, vir dieselfde bindingsetel op die ensiem kompeteer. Onlangs is vasgestel dat katesjolestrogene volgens 'n soortgelyke meganisme inhibisie van tirosienhidroksilase bewerkstellig.<sup>19</sup> As in ag geneem word dat die beskikbaarheid van tetrahydrobiop-terien op sigself 'n regulerende effek op die biosintese van



katesjolamiene uitoefen, is dit duidelik dat katesjolestrogene deur bogenoemde reguleringsmeganisme 'n groot effek op katesjolamienvlakke kan uitoefen.

Laastens, ook op die vlak van die neurotransmitter-reseptor, toon katesjolestrogene spesifieke interaksies. Die bekende dopamienantagonis, <sup>3</sup>H-spiroperiodol, word deur 2-hidroksiëstradiol verplaas vanaf hipofisêre dopaminerge reseptore met 'n inhibisie-konstante van  $9 \times 10^{-6}$  M.<sup>20</sup> Die affiniteit van 2-hidroksiëstradiol vir die reseptor is nagenoeg net so groot soos dié van dopamien self, en 'n fisiologiese rol vir hierdie interaksie lyk dus baie moontlik.

Katesjolestrogene kan dus teoreties die metabolisme, biosintese of werking van katesjolamiene beïnvloed. Watter een van hierdie meganismes, indien enige, fisiologies relevant is, is egter geen uitgemaakte saak nie. Met die moderne tegnieke soos radio-immunoëssai en hoë werkverrigtings-vloeistofchromatografie behoort daar binne die afsienbare toekoms uitsluitel gekry te word of katesjolestrogene in die geval van die mens as blote metaboliëte beskou moet word en of hierdie groep verbindings van fisiologiese of selfs kliniese belang kan wees.

### ADDENDUM

Na aanvaarding van hierdie artikel het verdere bewyse van interaksies tussen katesjolestrogene en neurotransmitter-reseptore aan die lig gekom. Daar is gevind dat 2-hidroksiëstradiol (0,1  $\mu$ M) in staat is om histamien-gestimuleerde sikliese 3,5-adenosien-monofosfaat (sAMP)-produksie in die hipotalamus te inhibeer.<sup>21</sup> Die meganisme en belang

van hierdie interessante waarneming is nog onduidelik. In 'n ander belangrike onlangse publikasie is daar gevind dat 2-hidroksiëstroon LH-sekresie in die estrogeen-behandelde hipogonadale vrou onderdruk.<sup>22</sup> Sover bekend is hierdie die eerste eksperimentele demonstrasie van biologiese aktiwiteit van 'n katesjolestrogeen by die mens.

### VERWYSINGS

1. Fishman, J. (1963): *J. clin. Endocr.*, **23**, 207.
2. Chatteraj, S. C., Famous, A. S., Cecchini, D. *et al.* (1978): *Steroids*, **31**, 375.
3. Paul, S. M., Axelrod, J. en Dilberto, E. J. (1977): *Endocrinology*, **101**, 1604.
4. Numazawa, M., Soeda, N., Kiyeno, Y. *et al.* (1978): *J. Steroid Biochem.*, **10**, 227.
5. Fishman, J. en Norton, B. (1974): *Endocrinology*, **96**, 1054.
6. Ball, P., Haupt, M. en Knuppen, R. (1976): *Acta endocr. (Kbh.)*, **87**, 1.
7. Fishman, J., Naftolin, F., Davies, I. J. *et al.* (1976): *J. clin. Endocr.*, **42**, 177.
8. Ball, P. en Knuppen, R. (1978): *Ibid.*, **47**, 732.
9. Gethman, U. en Knuppen, R. (1976): *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.*, **357**, 1011.
10. Naftolin, F., Morishata, H., Davies, I. J. *et al.* (1975): *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **64**, 905.
11. Gethman, U., Ball, P. en Knuppen, R. (1978): *Acta endocr. (Kbh.)*, **87**, bylae 215, bl. 102.
12. Parvizi, N. en Ellendorff, F. (1975): *Nature*, **256**, 59.
13. Luttge, W. G. en Jasper, T. W. (1977): *Life Sci.*, **20**, 419.
14. Paul, S. M. en Skolnick, P. (1977): *Nature*, **266**, 560.
15. Ball, P., Gelbke, H. P. en Knuppen, R. (1975): *J. clin. Endocr.*, **40**, 406.
16. Emons, G., Ball, P., Von Postel, G. *et al.* (1979): *Acta endocr. (Kbh.)*, **91**, 158.
17. Martucci, C. en Fishman, J. (1976): *Steroids*, **27**, 325.
18. Lloyd, T., Weisz, J. en Breakefield, X. O. (1978): *J. Neurochem.*, **31**, 245.
19. Lloyd, T. en Weisz, J. (1978): *J. biol. Chem.*, **253**, 4841.
20. Schaeffer, J. M. en Hseuh, A. J. W. (1979): *Ibid.*, **254**, 5606.
21. Portaleone, P., Genazi, E., Pagnini, G. *et al.* (1980): *Brain Res.*, **187**, 216.
22. Adashi, E. Y., Rakoff, J., Divers, W. *et al.* (1979): *Life Sci.*, **25**, 2051.

## NUUS EN KOMMENTAAR

### INTESTINAL OBSTRUCTION DUE TO A PILL BOTTLE DESICCANT

It is quite common practice nowadays to find in a bottle of capsules a package of activated carbon or silicone gel used to keep the capsules dry. It might seem difficult to swallow this desiccant by accident, but this actually happened in 2 cases reported by Muhletaler *et al.* (*J. Amer. med. Ass.*, 1980, **243**, 1921). The mishap is liable to happen to a nearsighted elderly person who cannot readily distinguish the desiccant from the capsules.

A 70-year-old woman had nausea and vomiting, shown by barium meal to be due to a square, fixed filling defect in the gastric antrum. Gastroscopy revealed a small desiccant cylinder trapped between oedematous folds in the antrum. She had no idea that she had swallowed this object. In the second case, also in an older woman, the foreign body was seen in the barium meal series, but appeared to be expelled by vomiting and was not later present. She also denied the accident.

## NEWS AND COMMENT

### CONJUGAL THYROID DISEASE

In New Zealand, Brownlie *et al.* (*N.Z. med. J.*, 1980, **91**, 246) have observed what may prove to be yet another hazard of married life. They have discovered 6 married couples with thyrotoxicosis, 1 couple with primary hypothyroidism, and 1 couple with well-differentiated thyroid cancer. Although genetic predisposition to thyroid disease is well accepted, the occurrence of thyroid disease in married couples has received little comment. All the thyrotoxic patients responded to treatment. The mean age at diagnosis was 60 years and the mean number of years of marriage 28. The husbands developed thyrotoxicosis before their spouses in 5 instances.

The hypothyroid patient was a man of 62, whose wife attended the clinic with him and was also found to have moderate hypothyroidism. There was no past history of neck irradiation in the couple with differentiated thyroid cancer, who had married in 1947. The authors speculated that there may have been a previous episode of painless thyroiditis in some of these couples.